

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ЗНАЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА
АМНИОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ
ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Е. В. СПИРИДОНОВА, Е. В. КОВАЛЕВ

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Реферат

Изучено содержание ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, интерферона- γ , ФНО- α в амниотической жидкости 298 пациенток в сроке 18-21 недель беременности. Основная группа включала 5 подгрупп: I подгруппа—43 пациентки с преждевременным разрывом плодных оболочек; II подгруппа—63 пациентки с гестозом второй половины беременности; III подгруппа—39 случаев задержки роста плода; IV подгруппа—72 женщины с многоводием; V подгруппа—27 случаев маловодия. В контрольную группу вошло 54 беременных женщины. Особенностью цитокинового статуса околоплодной среды в 18 недель при физиологически протекающей беременности является выраженная активность противовоспалительного звена при низкой активности провоспалительного компонента. Прогностически значимы изменения медианных концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, интерферона- γ , ФНО- α при определении их в АЖ в сроке 18 недель беременности: для ПРПО который произойдет в сроке от 22 до 29 недель беременности, для гестоза второй половины беременности до 28 недели беременности, для многоводия—от 22 до 24 недель беременности. Для формирования ЗРП и развития маловодия прогностического ограничения по срокам беременности нет.

Ключевые слова: амниотическая жидкость, цитокины, воспаление, прогнозирование.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема внутриутробных инфекций (ВУИ) является актуальной проблемой современного акушерства в связи с наличием ассоциированной частоты внутриутробной гибели плода, а также с повышенной частотой перинатальной заболеваемости и смертности у данной категории пациенток [1]. Поэтому надёжная диагностика бессимптомного внутриутробного инфицирования и дифференцированный подход к тактике ведения беременности у таких женщин представляет собой возможный резерв снижения перинатальной заболеваемости и смертности.

Второй триместр беременности характеризуется изменением механизма инфицирования ввиду формирования decidua parietalis. С 14-16 недель амниотическая жидкость (АЖ) становится резервуаром для патогенных микроорганизмов, вирусов, грибов, проникших в полость матки восходящим путем. Околоплодные воды в данные сроки беременности также содержат широкий спектр про- и противовоспалительных цитокинов. Диагностический поиск ранних предикторов ВУИ в АЖ и таргетированная лечебная стратегия представляются перспективными для снижения частоты реализации ВУИ [2].

Рядом исследователей показано, что концентрация ИЛ-1 β в АЖ статистически значимо выше в случаях преждевременного разрыва плодных оболочек [3, 4, 5, 6]. Также сообщается о значимой роли данного цитокина в патогенезе плодового воспалительного ответа [7] и реализации хориоамнионита в экспериментальных исследованиях на обезьянах. Показано, что содружественное повышение содержания ИЛ-1 β и ФНО- α в АЖ вызывает маточные сокращения и прерывание беременности [8].

Функция ИЛ-1 β во время беременности тесно связана с функцией фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерферона- γ . Считается, что данные цитокины вместе отвечают за потери плода во II-III триместрах. При этом установлена роль повышенного уровня интерферона в процессе повреждения клеток гранулы и стимуляции апоптоза на ранних сроках беременности [9]. При физиологически протекающей беременности клеточное звено иммунитета подавлено и интерферон- γ в АЖ не определяется.

Секреция ФНО- α подавлена при нормально протекающей беременности, повышена при стимуляции его выработки ЛПС бактерий [10, 11]. В другом исследовании статистически значимого повышения концентрации данного цитокина в АЖ при наличии кли-

нических признаков ВУИ не показано [6]. Показана значительная вариабельность концентрации ФНО- α в АЖ в зависимости от сроков беременности и пола плода, ИМТ матери [12].

Важным потенциальным предиктором внутриутробного инфицирования является определение IL-10 в АЖ. Известно, что концентрация данного цитокина остается стабильной начиная со второго триместра беременности, при этом его содержание в АЖ повышается при наличии инфекции, в связи со стимулирующим действием ЛПС бактерий на его продукцию. При этом подчеркивается его блокирующее действие на маточные сокращения [13].

IL-4 является ключевым регулятором гуморального иммунитета. Имеются данные о предиктивной ценности определения IL-4 в АЖ для диагностики ВУИ во втором триместре беременности [14]. Резкое снижение концентрации данного цитокина может указывать на наличие инфекции [6]. Однако, есть данные об отсутствии статистически значимых различий в концентрации IL-4 в АЖ во II триместре.

Экспрессия IL-2 в АЖ при физиологически протекающей беременности остается стабильно низкой, характер изменения его концентрации в зависимости от наличия либо отсутствия микробной инвазии остаётся невыясненной [15]. Таким образом, характер иммунологического ответа макроорганизма во время беременности на действие того или иного возбудителя остается во многом контраверсионным предметом.

Целью настоящего исследования явилось установление интраамниальных цитокиновых взаимодействий во время осуществления «второй волны» плацентации у женщин, беременность которых катamnестически осложнилась преждевременным разрывом плодных оболочек, гестозом второй половины беременности, задержкой роста плода, многоводием, маловодием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 808 беременных женщин, которым в сроке 18 недель в ходе выполнения диагностического амниоцентеза по медико-генетическим показаниям был произведен забор амниотической жидкости. Конечными точками считалось появление у пациенток следующих осложнений гестации: многоводие, маловодие, преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО), гестоз второй половины беременности, задержка роста плода (ЗРП).

Содержание ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, интерферона- γ , ФНО определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя наборы Вектор-Бест (РФ) в соответствии с протоколами исследования фирм-разработчиков.

Согласно дизайну исследования в основную группу вошли 244 беременные женщины, которые были разделены на подгруппы в соответствии с катamnестически выявленными осложнениями беременности.

Частота выявления конечных точек наблюдения для ПРПО составила 43 случая (5,3% [95% ДИ 4,0; 7,1]) – I подгруппа; для гестоза второй половины беременности 63 случая (7,8 [95% ДИ 6,1; 9,9]) – II подгруппа; для ЗРП – 39 случаев (4,8% [95% ДИ 3,5; 6,6]) – III подгруппа; для многоводия – 72 случая (8,9 [95% ДИ 7,1; 11,1]) – IV подгруппа; для маловодия – 27 случаев (3,3% [95% ДИ 2,3; 4,8]) – V подгруппа. В контрольную группу вошли 54 беременные женщины, беременность у которых протекала физиологически, а у новорожденных отсутствовали любые отклонения в состоянии здоровья до момента выписки из роддома.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Возраст обследованных пациенток колебался от 18 до 43 лет. Средний возраст в основной группе составил $32,8 \pm 5,6$ лет, а в контрольной – $34,2 \pm 5,5$ лет, по данному показателю группы статистически значимо не различались ($p > 0,05$). Нарушение жирового обмена достоверно чаще наблюдалось у женщин основной группы, чем у женщин контрольной группы – 26% [95% ДИ 17; 37] и 6% [95% ДИ 1; 16], соответственно, $p < 0,05$. В основной группе прибавка массы тела за период беременности составила в среднем $11,9 \pm 5$ кг, в контрольной группе $12,5 \pm 3,9$ кг, $p > 0,05$. В исследуемых группах предыдущие беременности заканчивались неблагоприятно (самопроизвольный выкидыш) у 18% [95% ДИ 10; 28] женщин основной и у 9% [95% ДИ 4; 20] женщин контрольной группы, $p > 0,05$. Частота встречаемости неразвивающейся беременности у женщин в основной группе составила 8% [95% ДИ 4; 17], в контрольной – 2% [95% ДИ 0,3; 10]. При изучении экстрагенитальной патологии статистически достоверные различия в группах выявлены среди женщин, имеющих в анамнезе хронические специфические инфекции – у 54 женщин (73% случаев [95% ДИ 62; 82] основной и у 19 женщин (35% случаев [95% ДИ 24; 49]) контрольной группы, эндокринопатии у 40 женщин (55% случаев [95% ДИ 30; 56]) и у 11 женщин (20% случаев [95% ДИ 12; 33]), соответственно ($p < 0,05$). При анализе полученные данные были установлены статистически достоверные различия в группах среди женщин, имеющих следующие осложнения течения беременности – фетоплацентарная недостаточность (ФПН) у 34 женщин (46% случаев [95% ДИ 35; 57]) основной и 13 женщин (24% случаев [95% ДИ 15; 37]) контрольной группы, патология околоплодной среды у 22 женщин (30% случаев [95% ДИ 21; 41]) и у 7 женщин (13% случаев [95% ДИ 6; 24]), соответственно ($p < 0,05$). Следует также отметить, что ФПН достоверно чаще встречалась в сочетании с маловодием – у 7 женщин (10%) основной группы, в контрольной не было выявлено ни одного случая, $p < 0,05$.

Патологические изменения установлены в 83 последах. Повреждения последа в виде мембранита наблюдались в 55,4% случаях [95% ДИ 44,7; 65,6], децидуит в 28,9% [95% ДИ 20,2; 39,5], хорионит – в

Таблица 1. Концентрация интерлейкинов в околоплодных водах пациенток при формировании осложнений беременности и физиологическом процессе гестации (Ме (25%; 75%))

Показатель	Группы обследованных женщин					Контрольная группа (n=54)
	Основная группа (n=244)					
	I п/группа (n=43)	II п/группа (n=63)	III п/группа (n=39)	IV п/группа (n=72)	V п/группа (n=27)	
ИЛ-1β	0,46	0,27	0,46	0,03	0,87*	0,38
пг/мл	(0,21; 1,23)	(0,00; 1,02)	(0,08; 0,75)	(0,00; 0,68)	(0,48-1,12)	(0,00-0,52)
ИЛ-2	62,63*	0,12	0,23	31,0	39,21*	0,08
пг/мл	(11,37-196,28)	(0,00; 17,12)	(0,00; 8,73)	(0,00; 96,2)	(14,54; 188,79)	(0,00; 4,28)
ИЛ-4	39,9*	76,4*	59,6;*	117,9	98,7	142,3
пг/мл	(14,4; 82,6)	(27,3; 112,8)	(30,2; 115,4)	(97,1; 164,6)	(53,4; 124,1)	(113,7; 158,4)
ИЛ-10	28,3*	64,2*	79,8*	186,4	177,8*	276,6
пг/мл	(9,2; 93,9)	(35,1; 137,8)	(56,3; 148,6)	(132,7; 289,1)	(142,7; 253,4)	(232,1; 300,2)
γ-ИНФ	128,3*	42,8	118,9*	71,2	111,3*	56,8
пг/мл	(119,4; 211,6)	(14,1; 107,5)	(85,1; 198,2)	(24,8; 121,6)	(66,4; 153,7)	(11,8; 72,8)
ФНО-α	99,2*	21,2	42,4*	36,5	22,8	9,7
пг/мл	(35,9; 141,6)	(5,2; 79,6)	(38,7; 103,6)	(6,7; 78,3)	(10,3; 117,5)	(1,2; 24,9)

* разница статистически достоверна при сравнении с контрольной группой (тест Ньюмана-Кейлса), $p < 0,05$.

48,2% [95% ДИ 37,8; 58,8], флебит – в 1,2% [95% ДИ 0,4; 7,2], амнионит – в 1,2% [95% ДИ 0,4; 7,2], интервиллизит – в 1,2% [95% ДИ 0,4; 7,2] случаев.

Данные о концентрации ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, интерферона-γ, ФНО в околоплодных водах пациенток при формировании осложнений беременности и физиологическом процессе гестации представлены в таблице 1.

Установлено, что концентрация ИЛ-1β в амниотической жидкости в 18 недель беременности статистически значимо различается в сравнении с контрольной группой только в V подгруппе и составила 0,87 (0,48; 1,12) пг/мл и 0,38 (0,00; 0,52) пг/мл соответственно.

Концентрация ИЛ-2 в околоплодных водах увеличивается к 18 неделям беременности у беременных женщин I и V подгруппы в сравнении с контрольной группой и составляет 62,63 (11,37; 196,28) пг/мл, 39,21 (14,54; 188,79) пг/мл и 0,08 (0,00-4,28) пг/мл, соответственно.

Высокие значения концентрации интерферона-γ в амниотической жидкости характерны для беременных женщин I, III и V подгрупп и составили соответственно 128,3 (119,4; 211,6) пг/мл, 118,9 (85,1; 198,2) пг/мл и 111,3 (66,4; 153,7) пг/мл против 56,8 (11,8; 72,8) пг/мл у беременных женщин контрольной группы.

Повышение содержания ФНО-α в АЖ также характерно для беременных женщин в I и III подгруппах и составило соответственно 99,2 (35,9; 141,6) пг/мл и 42,4 (38,7; 103,6) пг/мл против 9,7 (1,2; 24,9) пг/мл в контрольной группе.

Учитывая полученные данные, установлено, что изменения реакции околоплодной среды у беременных женщин, преждевременные роды у которых начинаются с ПРПО уже в 18 недель беременности, выражаются в низком уровне активности противовоспалительного звена цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) и высоком уровне провоспалительной активности цитокинов (ИЛ-

2, интерферона-γ, ФНО-α). Однако, точность прогноза в отношении данного осложнения ограничена 5-11 неделями, что было установлено проведением кластерного анализа методом k-средних. Также в нашем исследовании установлено, что ПРПО увеличивало отношение шансов (ОШ) развития перинатальной патологии нервной системы в 6,3 раза [95% ДИ 1,3; 31,7], $p = 0,03$, респираторного дистресс-синдрома в 27,6 раза [95% ДИ 1,7; 46,7], $p = 0,02$, асфиксии – в 7,0 раз [95% ДИ 2,0; 9,6], $p = 0,006$.

Снижение активности противовоспалительной составляющей цитокинового каскада (ИЛ-4, ИЛ-10) в АЖ характерна для развития такого грозного осложнения, как гестоз второй половины беременности, но при этом не происходит статистически значимого усиления активности провоспалительной составляющей. При применении кластерного анализа установлено, что данные изменения характерны для гестоза второй половины беременности, который начнется не позднее 28 недели беременности.

При формировании гипотрофии плода можно наблюдать реакцию околоплодной среды как в направлении ослабления противовоспалительного (ИЛ-4, ИЛ-10), так и в усилении провоспалительного ответов (γ-ИНФ, ФНО-α). При этом следует отметить, что данные изменения не разделяются на значимые кластеры, в зависимости от срока беременности, что дает возможность использовать эти изменения для прогнозирования ЗРП на протяжении всего оставшегося гестационного периода.

При беременности, осложняющейся многоводием, не получено статистически значимых результатов, отражающих изменение состояния про- и противовоспалительного цитокинового звена. При анализе методом k-средних выделен кластер, который характеризуется развитием многоводия в течение ближайших 4-6 недель, а уровень ИЛ-4 и ИЛ-10 статистически зна-

чимо отличается от контрольной группы и составляет соответственно 32,8 (24,1; 56,8) пг/мл и 62,3 (51,7; 79,6) пг/л против 142,3 (113,7; 158,4) пг/мл и 276,6 (232,1; 300,2) пг/мл. Данный факт можно объяснить тем, что увеличение объема околоплодной среды, как правило, является достаточно острой реакцией на различные факторы как инфекционного, так и неинфекционного генеза.

Многоводие увеличивает ОШ развития таких повреждений плаценты, как децидуит и хорионит в 12,0 раз [95% ДИ 3,3; 18,5], ($p=0,004$), однако, не увеличивает риск неблагоприятных исходов для плода и новорожденного.

При нарушении функционирования фетоплацентарного комплекса, проявляющегося формированием маловодия разной степени тяжести, уже в 18 недель гестации в околоплодной среде отмечаются сдвиги в сторону активации провоспалительных процессов (повышение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-2, интерферона- γ) и ослабления противовоспалительной защиты, выражающегося в снижении содержания ИЛ-10. Такая картина может быть следствием того, что уменьшение секреции околоплодной среды является следствием как инфекционной инвазии, так и фетоплацентарной недостаточности на фоне эндотелиальной дисфункции. Маловодие, в свою очередь, увеличивает частоту развития таких повреждений в плаценте, как децидуит, хорионит и мембранит—ОШ=8,9 [95% ДИ 2,3; 14,9], $p=0,019$.

ВЫВОДЫ

1. Особенностью цитокинового статуса околоплодной среды в 18 недель при физиологически протекающей беременности является выраженная активность противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-4—142,3 (113,7; 158,4) пг/мл; ИЛ-10—276,6 (232,1; 300,2) пг/мл), при низкой активности провоспалительных цитокинов (содержание интерферона- γ - 56,8 (11,8; 72,8) пг/мл, ФНО- α —9,7 (1,2; 24,9) пг/мл) и следовой реакцией ИЛ-1 β —0,38 (0,00; 0,52) пг/мл и ИЛ-2 - 0,08 (0,00; 4,28) пг/мл.
2. Снижение медианных концентраций ИЛ-4 в 3,6 раза и ИЛ-10 в 9,7 раза характерно для ПРПО; для гестоза второй половины беременности - в 1,8 и 4,3 раза, соответственно; для ЗРП—в 2,4 и 3,5 раза, соответственно. При этом комплиментарное увеличение медианных концентраций провоспалительных цитокинов характерно только для ПРПО и ЗРП.
3. Прогностически значимы изменения медианных концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, интерферона- γ , ФНО- α при определении их в АЖ в сроке 18 недель беременности: для ПРПО, который произойдет в сроке от 22 до 29 недель беременности, для гестоза второй половины беременности до 28 недели беременности, для многоводия—от 22 до 24 недели беременности. Для формирования ЗРП и развития маловодия прогностического ограничения по

срокам беременности нет.

4. Наличие у беременной женщины неблагоприятного прегравидарного фона (нарушение жирового обмена, эндокринопатии, хронические специфические инфекционные заболевания) вместе с нарушением физиологического течения второй волны плацентации является фактором риска формирования в дальнейшем осложнений беременности преимущественно плацентарного генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунов, Е.Ф. Внутриутробные инфекции, их значение в перинатальной патологии, возможности диагностики и профилактики / Е.Ф. Горбунов // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. — 2006. - № 35. - С. 42-44.
2. Сидорова, И.С. Руководство по акушерству : учеб. пособие / И.С. Сидорова, В.И. Кулаков, И.О. Макаров. — М. : Медицина, 2006. — 848 с.
3. Mid-trimester amniotic fluid interleukins (IL-1 β , IL-10 and IL-18) as possible predictors of preterm delivery / K. Puchner [et. al.] // In Vivo. — 2011. — Vol. 25, № 1. — P. 141-148.
4. Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and intact membranes / R. Figueroa [et. al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. — 2005. — Vol. 18, № 4. — P. 241-247.
5. Maternal serum and amniotic fluid IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-6 and IL-8 levels in preterm and term labor complicated by PROM / M. Witeczak [et. al.] // Ginekol. Pol. — 2003. — Vol. 74, № 10. — P. 1343-1347.
6. Diagnostic biomarkers of pro-inflammatory immune-mediated preterm birth / T. Weissenbacher [et. al.] // Arch. Gynecol. Obstet. — 2013. - Vol. 287, №4. — P. 673-685.
7. IL-1 mediates pulmonary and systemic inflammatory responses to chorioamnionitis induced by lipopolysaccharide / S.G. Kallapur [et. al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2009. — Vol. 179 № 10. — P. 955-961.
8. Intra-amniotic IL-1 β induces fetal inflammation in rhesus monkeys and alters the regulatory T cell/IL-17 balance / Kallapur S.G. [et. al.] // J. Immunol. — 2013. — Vol. 191, № 3. — P. 1102-1109.
9. Interferon-gamma and activin A promote insulin-like growth factor-binding protein-2 and -4 accumulation by human luteinizing granulosa cells, and interferon-gamma promotes their apoptosis / N.A. Cataldo [et. al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — Vol. 83, № 1. — P. 179-186.
10. Unique alterations in infection-induced immune activation during pregnancy / S.S. Witkin // BJOG. — 2011. — Vol. 118, № 2. — P. 145-153.
11. Surfactant protein D modulates levels of IL-10 and TNF- α in intrauterine compartments during lipopolysaccharide-induced preterm birth / A. Salminen // Cytokine. — 2012. — Vol. 60, № 2. — P. 423-430.
12. Influence of maternal age, gestational age and fetal gender on expression of immune mediators in amniotic fluid / T. Weissenbacher [et. al.] // BMC Res. Notes [Electronic resource]. — 2012. - Mode of access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3479422/>. - Date of access:

- 12.04.2015.
13. The anti-inflammatory limb of the immune response in preterm labor, intra-amniotic infection/inflammation, and spontaneous parturition at term: a role for interleukin-10 / F. Gotsch [et. al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2008. – Vol. 21, № 8. – P. 529-547.
14. Protein microarrays on midtrimester amniotic fluids: a novel approach for the diagnosis of early intrauterine inflammation related to preterm delivery / G.B. La Sala [et. al.] // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. – 2012. – Vol. 25, № 4. – P. 1029-1040.
15. Human amniotic fluid lacks interleukin-2 and interleukin-15 but can interact with the β -chain of the interleukin-2 receptor / R.F. Searle [et.al.] // Immunology. – 2000. – Vol. 99, №3. – P. 411–417

SIGNIFICANCE OF CYTOKINE STATUS PECULIARITIES OF AMNIOTIC FLUID IN PROGNOSIS OF PREGNANCY COMPLICATIONS

E. V. SPIRIDONOVA, E. V. KOVALEV

Educational institution “Vitebsk State Order of People’s Friendship Medical University”

Abstract

The content of IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, interferon- γ , TNF- α in the amniotic fluid of 298 patients in 18-21 weeks of pregnancy was evaluated. The main group was subdivided into 5 subgroups: subgroup I-43 patients with premature rupture of membranes; subgroup II-63 patients with preeclampsia; subgroup III-39 cases of fetal growth retardation; subgroup IV-72 women with polyhydroamnios; V subgroup-27 cases of oligohydroamnios. The control group included 54 pregnant women. The peculiarity of cytokine status of amnion in 18 weeks in case of physiological pregnancy is manifested anti-inflammatory activity level (IL-4, IL-10) at the same time with low activity of pro-inflammatory component (TNF- α). The changes in median concentrations of IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, interferon- γ , TNF- α in a term of 18 weeks are prognostically valueable: for PROM that occurs during the period from 22 to 29 weeks pregnancy, preeclampsia -before 28 weeks of pregnancy, for polyhydroamnios - from 22 to 24 weeks of pregnancy. There are no prognostic restrictions for the formation and development of oligohydroamnios and growth retardation according to the terms of pregnancy.

Key words: amniotic fluid, cytokines, inflammation, prognosis.